

Aus der Urologischen Klinik der Johannes Gutenberg-
Universität Mainz

**EXPERIMENTELLE GRUNDLAGEN ZUR
KONSERVATIVEN BEHANDLUNG DES
PROSTATAADENOMS: IN-VITRO-STOFFWECHSEL
VON ^3H -TESTOSTERON IN GEGENWART VON
GESTONORON CAPRONAT**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
den medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
JOACHIM R. VOLKMER
aus Frankfurt/Main

Mainz 1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554426_0009

Aus der Urologischen Klinik der Johannes Gutenberg-
Universität Mainz

**EXPERIMENTELLE GRUNDLAGEN ZUR
KONSERVATIVEN BEHANDLUNG DES
PROSTATAADENOMS: IN-VITRO-STOFFWECHSEL
VON ^3H -TESTOSTERON IN GEGENWART VON
GESTONORON CAPRONAT**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
den medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
JOACHIM R. VOLKMER
aus Frankfurt/Main

Mainz 1973

Fachbereichsdekan: Prof. Dr. Langendorf

Referent: Prof. Dr. Orestano

Koreferent: Prof. Dr. Hohenfellner



Inhalt	Seite
I Einführung	1
1 Einleitung	1
2 Bedeutung der Steroidhormone für Anatomie und Wachstum der Prostata	1
3 Stoffwechsel des Testosterons in der Prostata	3
4 Bedeutung der Reduktion von Testosteron zu 5 α -Dihydrotestosteron	5
5 Wirkungsentfaltung der Steroidhormone	7
II Arbeitshypothese	9
III Material und Methode	11
1 Biologisches Material	11
2 Reagenzien	11
3 Versuchsanordnung	12
4 Inkubation	13
5 Zertrümmerung	13
6 Homogenisation	14
7 Extraktion	14
8 Dünnschicht-Chromatographie	15
9 Radiochromatographie	16
10 Elution	18
11 Identifizierung	19
12 Statistisches Verfahren	19
IV Ergebnisse	22
1 Ergebnisse	22
2 Statistische Auswertung	23
3 Tabellen und Graphiken	24

V Diskussion	31
1 Deutung der Ergebnisse	31
2 Vergleich Gestonoron Capronat - Anti-Androgene	35
3 Ergebnisse anderer Autoren mit Gestonoron Capronat	36
VI Zusammenfassung	38
VII Quellennachweis	40

I. Einführung

1. Einleitung

Eine häufige Erkrankung des menschlichen Urogenitalsystems stellt das Prostataadenom des Mannes dar, das sich bei über der Hälfte aller Männer über 60 Jahren entwickelt. Dabei handelt es sich um eine gutartige fibroadenomyomatöse Wucherung der periurethralen Drüsen. Die hintere Harnröhre wird dadurch eingeengt. Folge des erhöhten Blasenaustrittswiderstandes ist zunächst die Abschwächung des Harnstrahls, später das Ansteigen der Restharnmenge mit der Entwicklung einer Harninfektion und im Endstadium die Urämie.

Eine konservative Behandlung dieser chronischen Krankheit ist angezeigt bei lästigen subjektiven Beschwerden wie Dysurie und Pollakisurie ohne wesentliche objektive Befunde und gleichzeitig geringer Restharnmenge oder wenn im hohen Alter, bei schweren Begleiterkrankungen oder ablehnender Haltung des Patienten eine Operation nicht oder noch nicht durchführbar ist. Zur konservativen Therapie gehört heute der Dauerkatheter bei inoperablen Patienten mit großer Restharnmenge und die symptomatische Behandlung, z. B. mit Pflanzenextrakten.

Bevor auf die aussichtsreichere Behandlung mit Gestagenen eingegangen wird, sei die Bedeutung von Steroidhormonen auf Anatomie und Wachstum der Prostata hervorgehoben.

2. Bedeutung der Steroidhormone für Anatomie und Wachstum der Prostata

Die normale Struktur und Funktion der Prostata setzt eine intakte Hodenfunktion voraus. Nach Kastration atrophiert

die Prostata. Auch das Prostataadenom kann sich ohne das im Hoden gebildete Testosteron nicht entwickeln. Andrews untersuchte 1951 die Abhängigkeit des Organs von Östrogenen. Er wies an Föten und Neugeborenen eine Sensibilität verschiedener Lappen der Prostata für Androgene und Östrogene nach, d. h. diese Anteile reagieren auf ein Angebot der Hormone mit einem Wachstum.

Die Prostata wiegt bei Geburt einige Gramm und weist unter dem Einfluß von Östrogenen der Mutter eine squamöse Metaplasie der mittleren und lateralen Lappen auf (Halban, 1904). Die körpereigenen Androgene rufen beim dorsalen und lateralen Lappen eine fokale Hyperplasie hervor (Price, 1962). Das Organ verkleinert sich jedoch bald und behält bis zur Pubertät sein Gewicht bei.

Im 20. Lebensjahr erreicht die Prostata unter dem androgenen Einfluß der Hoden ein Gewicht von 20 Gramm und verändert dann 25 Jahre weder Gewicht noch histologische Struktur. Im fünften Lebensjahrzehnt kommt es bei etwa 75 % aller Männer zu einem weiteren Wachstum der periurethralen Drüsen, aus dem die pathognomonische Behinderung der Blasenentleerung folgt.

Auch heute kann das alte Konzept einer hormonalen Gleichgewichtsstörung zwischen Testosteron und Östrogen für die Entwicklung des Prostataadenoms noch nicht aufgegeben werden. Die Plasmakonzentration von Testosteron bleibt jedoch nahezu unverändert, da sich im Alter gleichzeitig mit dem Absinken der Produktionsrate von Testosteron auch die Ausscheidungsrate seiner Metaboliten erniedrigt.

Beim Hypogonadismus bleibt die Entstehung eines Prostata-

adenoms aus, da Testosteron nicht mehr gebildet werden kann. Umgekehrt kann durch Substitution mit 5α -Dihydrotestosteron, einem Reduktionsprodukt von Testosteron, bei Hunden und Ratten ein Prostatawachstum induziert werden (Gloyna, Siiteri und Wilson, 1970).

Diese Befunde deuten auf einen Zusammenhang zwischen androgenen Hormonen und dem Wachstum der Prostata bzw. der Entwicklung eines Prostataadenoms hin.

3. Stoffwechsel des Testosterons in der Prostata

Die Testosteron-Synthese erfolgt unter dem steuernden Einfluß des Luteinisierungshormons vorwiegend in den Leydig'schen Zwischenzellen des Hodens. Die Testosteron-Neubildung durch die Nebennierenrinde ist quantitativ bedeutungslos.

Als erster Stoffwechselprozeß in der menschlichen Prostata wurde von Wotiz et al 1954 die Umwandlung von Testosteron zu Androstendion demonstriert. Farnsworth konnte 1963 Dihydrotestosteron, Androstandion und Androstandiol in diesem Organ als weitere Testosteron-Metaboliten nachweisen. Heute unterscheidet man zwei Abbauege des Testosterons (Staib, 1968).

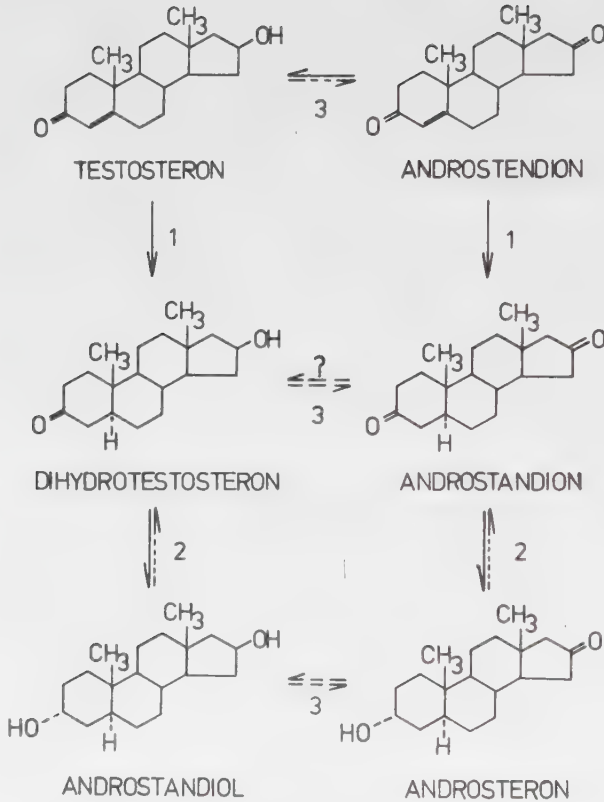


Abb. 1: Darstellung der Testosteron-Metaboliten und der Testosteron-Umwandlung. Die beteiligten Enzyme sind von 1 bis 3 nummeriert. Es sind

- 1.) Δ^4 -3-Ketosteroid-5 α -Oxidoreduktase (5 α -Reduktase)
- 2.) 3 α -Hydroxy-C₁₉-Steroid-Dehydrogenase
- 3.) 17 β -Hydroxy-C₁₉-Steroid-Dehydrogenase

In der Prostata und anderen androgenabhängigen Organen erfolgt die Umwandlung von Testosteron hauptsächlich über den 17α -Hydroxy-Weg, wo es zuerst irreversibel zu 5α -Dihydrotestosteron reduziert und Dihydrotestosteron wiederum zu Androstandiol umgewandelt wird. Der analoge β -Hydroxy-Weg spielt quantitativ in der Prostata keine Rolle. In Muskel und Leber wird dagegen der 17 -Keto-Weg beschritten, auf dem Testosteron zuerst reversibel zu Androstendion umgewandelt wird, wobei das Gleichgewicht auf seiten des Testosterons liegt. Aus Androstendion entsteht dann Androstendion und im folgenden Androsteron.

Die an den Umwandlungen beteiligten Enzyme in der Prostata benötigen alle NADP oder NADPH als Cofaktoren und sind im Cytoplasma lokalisiert (CHamberlain, 1966). Die 5α -Reduktase weist die größte Aktivität dieser Enzyme auf und wird zu über 50 % mit dem Chromatin des Zellkerns gefunden (Frederiksen und Wilson, 1970; Moore und Wilson, 1972). Auffallend an dieser Verteilung ist, daß gewöhnlich nur 2 - 4 % des gesamten Zellbestandes eines Enzyms im Zellkern lokalisiert sind.

Ausscheidung: Testosteron und seine Metaboliten werden in veresterter Form im Urin ausgeschieden und machen dort 30 - 50 % der 17 -Ketosteroide aus.

4. Bedeutung der Reduktion Testosteron- 5α -Dihydrotestosteron

Die Ansicht, daß 5α -Dihydrotestosteron in den androgenen Erfolgsorganen eine größere Wirkung entfaltet als Testosteron selbst, wird von vielen Autoren geteilt (Wilson, Bruchowsky und Gloyna). Becker et al konnten kürzlich bestätigen, daß 5α -Dihydrotestosteron in der menschlichen Prostata nicht nur in vitro (Anderson und Liao, 1968) sondern auch in vivo als Hauptumwandlungs-

produkt des Testosterons erscheint.

Die Wirksamkeit des 5α -Dihydrotestosterons auf die Proteinsynthese beschränkt sich allerdings auf die Erfolgsorgane, denn Niere, Muskel und Darm enthalten nur wenig 5α -Dihydrotestosteron. In der Leber wird Testosteron offenbar so schnell in Conjugate umgewandelt, daß Dihydrotestosteron und Androstandiol nicht nachgewiesen werden können.

Wie Baulieu und Lasnitzki 1968 an Organkulturen von Prostatagewebe der Ratte zeigten, beeinflußt Testosteron die Sekretion, während Dihydrotestosteron für Zellteilung und Epithelhyperplasie verantwortlich ist. In den Zellkernen der Prostata wird auch nicht Testosteron, sondern Dihydrotestosteron an Protein gebunden.

Die Bedeutung des Dihydrotestosterons wird auch dadurch belegt, daß Gloyna und Wilson 1969 bei elf verschiedenen Spezies eine Korrelation zwischen der endgültigen Größe der Prostata und der Dihydrotestosteron-Neubildung fand. Dabei sind die Umwandlungsraten beim Menschen, Hund und Löwen, die selbst am Prostataadenom erkranken können, am höchsten.

Obwohl Dihydrotestosterongaben bei kastrierten Ratten und Hunden ein Prostatawachstum erzeugten und auch im menschlichen Prostataadenom die Dihydrotestosteron-Konzentration fünffach höher ist als in der Norm, kann noch nicht eindeutig gezeigt werden, ob die Akkumulation von Dihydrotestosteron im Adenom Ursache oder Folge des übersteigerten Wachstums ist. Eindeutig ist allerdings die Rolle von 5α -Dihydrotestosteron als hauptwirksames Androgen in der Prostata. Testosteron ist somit nur als Prähormon zu bezeichnen (Wilson, 1972).

5. Die Wirkungsentfaltung der Steroidhormone

Im Blutplasma ist Testosteron als vorherrschendes Androgen teils frei, teils an TBG (= testosteronbindendes Globulin) und CBG (= corticosteroidbindendes Globulin) in einer Konzentration von 500 - 1000 ng/100ml gebunden. Das Verhältnis von Testosteron zu 5 α -Dihydrotestosteron beträgt 10:1. Das gebundene Testosteron ist dem Stoffwechsel entzogen, das freie kann gemäß einer Art Konzentrationsgefälle passiv in die Zellen der Prostata diffundieren (Wilson, 1972).

In der Prostata wird Testosteron nach Cytoplasmapassage an der Kernmembran und am endoplasmatischen Retikulum zu 5 α -Dihydrotestosteron reduziert. Aus dem Unvermögen dieser Androgene, die RNA-Synthese in der isolierten Kernfraktion zu stimulieren, schlossen Mangan und Mainwaring 1971 auf spezifische, im Cytoplasma lokalisierte Rezeptoren, die sich nach Verbindung mit Androgenen an die Kernmembran anheften oder als Rezeptor-Androgen-Komplex in den Kern eintreten. Da auch eine Mischung von Prostatakernen mit Lebercytoplasma nicht geeignet ist, den Steroidhormonen Eintritt in den Kern zu verschaffen, scheint ein spezifischer Zwischenschritt in der Wirkungsentfaltung der Androgene notwendig zu sein.

So fand Hansson 1971, daß die Retention der Radioaktivität zugegebener Androgene nach Waschen zwanzigfach höher in der Prostata als im Muskel ist. Die Aktivitätsaufnahme in das Prostatagewebe war vier Mal höher als im Muskelgewebe.

Derselbe Autor berichtet 1972 von verschiedenen Rezeptor-

Protein-Komplexen mit Sedimentations-Koeffizienten von 3 bis 6,5 S im Cytoplasma der menschlichen Prostata und von einer begrenzten Aufnahmefähigkeit dieser Rezeptoren.

Das mit großer Affinität an einen Rezeptor gebundene 5α -Dihydrotestosteron erlangt Zutritt zum Nukleus, wo der Komplex an Chromatin gebunden wird und offenbar in der Lage ist, im Sinne einer Enzyminduktion die Matritzen-Aktivität der DNA zu dereprimieren (Neutralisierung der basischen Histone durch saure Komplexe?) die m-RNA-Transsscription zu bewirken und damit die Proteinsynthese in Gang zu setzen (Jakob und Monod, 1961).

Diese Wirkung kann durch eine Permabilitätssteigerung der Kernmembran, eine Vermehrung der RNA-Polymerase (Liao, 1965; Bruchowsky, 1968), oder eine Befreiung der DNA von reprimierenden Histonen hervorgerufen werden, wobei der Rezeptor, das Androgen oder der Rezeptor-Androgen-Komplex als Aktivator spezifischer genetischer Bezirke wirken könnten (Wilson und Loeb, 1965).

Das in Cytoplasma gebliebene sowie aus dem Kern ausgetretene 5α -Dihydrotestosteron wird dann durch weitere Konversion zu Androstandiol inaktiviert.

II. Arbeitshypothese

Nach Kenntnis dieser Stoffwechselvorgänge kann ein Vergleich der normalen mit der adenomatösen Prostata zu Aussagen über die Entstehungsweise des Adenoms, sowie der sich daraus ergebenden medikamentösen Behandlung führen:

Dabei fällt vor allem die ausgeprägte Akkumulation von 5α -Dihydrotestosteron im Adenom auf. Ursache dieser Akkumulation ist sicher nicht die Änderung der Blutplasmakonzentration. Diese liegt für Testosteron sowie für 5α -Dihydrotestosteron bei Patienten mit einem Prostataadenom im Bereich der Norm (Becker et al, 1972). Diese Autoren vertreten darüberhinaus die Ansicht, daß der Parameter Plasmakonzentration die Situation in der Prostatazelle nicht widerspiegelt.

Siiteri und Wilson konnten auch keinen Unterschied in der Umwandlungsrate von Testosteron zu 5α -Dihydrotestosteron bei Männern mit und ohne Adenom registrieren (6 - 7,8 pm/15mg/h). Danach scheidet eine gesteigerte Aktivität der 5α -Reduktase ebenfalls aus (Siiteri und Wilson, 1970).

Nach Giorgi (1971) scheint eine geringere Testosteron-Aufnahme in die Prostatazelle auch zu einer geringeren Neubildung von 5α -Dihydrotestosteron zu führen. Da hier aber die Metabolisierung von Dihydrotestosteron noch geringer als dessen Aufnahme und Bildung ist, was auf eine verminderte enzymatische Abbaufähigkeit zurückgeführt wird, resultiert ein Überschuß von 5α -Dihydrotestosteron und damit eine "chronische" Hormonwirkung dieses aktiven Androgens.

Nimmt man nur die Anhäufung von 5α -Dihydrotestosteron

als eine mögliche Entstehungsursache des Prostataadenoms an, so ergeben sich mehrere Möglichkeiten der medikamentösen Therapie:

1. Verhinderung des 5α -Dihydrotestosteron-Rezeptor-Complexes durch Anti-Androgene
2. Hemmung der 5α -Dihydrotestosteron-Neubildung durch kompetitive Hemmung der 5α -Reduktase
3. Ausschaltung der Testosteron-Neubildung durch Beeinflussung der Hodensekretion bzw. der Hypophysen-Stimulierung

Die vorliegende Arbeit untersucht, ob eine Hemmung der 5α -Reduktion des Testosterons durch 17α -OH- 19 -Nor-Progesteron-Capronat in vitro stattfindet.

Der in vitro-Versuch wird gerechtfertigt durch den Vergleich der Untersuchungsergebnisse von Becker et al 1972 über den Abbau des Testosterons im Prostataadenom nach in vivo-Gabe von ^3H -Testosteron mit denen in vitro von Siiteri, Wilson und Gloyna, 1970. Es kann eine Identität der Stoffwechselwege und der quantitativen Metabolitenneubildung aus Testosteron in vitro und in vivo festgestellt werden.

Es wird dadurch möglich, in vitro-Inkubationen von Prostataadenomgewebe zum Studium der Beeinflussbarkeit des Testosteron-Abbaus durch Steroid-Pharmaka heranzuziehen.

III. Material und Methode

1. Biologisches Material

Für die Untersuchungen wurden fünf Prostataadenome verwendet, die auf transvesikalem Weg entnommen waren und sofort in Krebs-Ringer-Phosphat-Puffer-Lösung, 4°C, gekühlt wurden.

Die Zeit zwischen operativer Entnahme und Verarbeitung war so kurz wie möglich, um eine regressiv-autolytische Veränderung des Gewebes zu vermeiden.

Histologisch handelte es sich stets um eine cystadenomyofibromatöse Hyperplasie der periurethralen Drüsen.

2. Reagenzien

Gestonoron Capronat (= 17 α -Hydroxy-19-Nor-Progesteron-Capronat, Handelsname Depostat^R, Firma Schering, Berlin) wurde zum Erzielen der gewünschten Konzentration in Äthanol gelöst.

7 α -³H-Testosteron (Androst-4-en-17- β -ol-3-on, Radio-Chemical-Center, Amersham, Berkshire), spezifische Aktivität 5Ci/mmol, wurde im System Hexan/Methanol/Wasser (5:4:1 v/v/v) durch Papierchromatographie gereinigt und anschließend in Äthanol gelöst.

Die Referenz-Substanz, die bei der vergleichenden Papierchromatographie als Trägerstoffe Verwendung fanden, wurden mit Silica-Gel F 245 Dünnschicht-Platten auf ihre Reinheit geprüft. Es waren:

- | | |
|------------------------------|--|
| 1. Testosteron | = Androst-4-en-17 β ol-3on |
| 2. 5 α -DHT | = 5 α -Androstan-17 β ol-3on |
| 3. 5 β -DHT | = 5 β -Androstan-17 β ol-3on |
| 4. 3 α -Androstandiol | = 5 α -Androstan-17 β -3 α -diol |
| 5. 3 β -Androstandiol | = 5 α -Androstan-17 β -3 β -diol |
| 6. 5 α -Androstandion | = 5 α -Androstan-3,17-dion |
| 7. 5 β -Androstandion | = 5 β -Androstan-3,17-dion |
| 8. Androstendion | = Androst-4-en-3,17dion |
| 9. Androsteron | = 5 α -Androstan-3 α ol-17-on |

1. - 3. und 5. - 9. Firma Merck, Darmstadt,
4. Ikapharm, Ramat Gan, Israel.

3. Versuchsanordnung

Je vier Proben von fünf Prostataadenomen wurden inkubiert. Die Ansätze bestanden aus jeweils 300 mg instrumentell zerkleinertem Gewebe, 2 ml Krebs-Ringer-Phosphat-Puffer-Lösung, pH 7,4, 1 μ Ci 7 α -³H-Testosteron (ergibt in 2 ml gelöst eine molare Konzentration von 10⁻⁷ mol/l) und Gestonoron Capronat in folgenden Konzentrationen:

Menge in pmol Gest. Capr.	Konzentration in mol/l
---------------------------	------------------------

0, 1	$\hat{=}$ 1,206 x 10 ⁻⁷ mol/l
1, 0	$\hat{=}$ 1,206 x 10 ⁻⁶ mol/l
10, 0	$\hat{=}$ 1,206 x 10 ⁻⁵ mol/l
100, 0	$\hat{=}$ 1,206 x 10 ⁻⁴ mol/l

Der Zusatz eines NADH und NADPH regenerierenden Systems ist bei Verwendung eines ungebrochenen Zellsystems nicht nötig.

Homogenat und Medium wurden nach Inkubation getrennt weiterverarbeitet.

4. Inkubation

Die Proben wurden zwei Stunden lang in Bechergläsern bei 37°C auf einer Schüttelmaschine (Typ 4010, Fa. Köttermann) in einem Brutschrank (Typ KB 600 K CO_2 , Fa. Heraeus, Hanau) bei $\text{O}_2:\text{CO}_2$ Atmosphäre von 95 % - : 5 % (v/v) inkubiert.

Die Reaktion wurde danach durch Zugabe von 10 ml Diäthyläther abgestoppt. Nicht sofort weiterverarbeitete Proben wurden im Kühlschrank bei -30°C aufbewahrt und bei Bedarf wieder aufgetaut, wobei der Äthyläther abgeblasen wurde.

Nun wurden Homogenat und Medium durch Abpipettieren und dreimaligem Nachwaschen mit insgesamt 10 ml physiologischer NaCl-Lösung voneinander getrennt.

Vor der Weiterverarbeitung wurden je 20 g der oben angeführten Referenz-Substanzen als Träger zugegeben.

5. Zertrümmerung

Das Homogenat wurde in 2 ml physiologischer Kochsalzlösung unter Eiswasserkühlung für fünf Minuten mit einem Gewebezetrümmerer (Ultra-Turrax, Ika-Werke, Staufen im Breisgau) zerkleinert. Der Gewebepulver wurde dann in ein Potterglas umgefüllt, Becherglas und Zertrümmerer in drei Spülgängen mit insgesamt 8 ml NaCl gereinigt, und das Becherglas mit 10 ml Diäthyläther gefüllt, der nach der folgenden Homogenisation der wässrigen Phase zum Nachspülen der Pottergläser verwendet wurde.

6. Homogenisation

Der Gewebebrei wurde mit einem Homogenisator (Fa. Braun, Melsungen) unter Eiswasserkühlung fünf Min. lang homogenisiert, um die noch intakten Zellkompartimente zu zerstören und die darin gespeicherten Substanzen zu befreien, und anschließend in Schüttelbirnen umgefüllt.

Die bereitstehenden 10 ml Diäthyläther wurden für den ersten Spülgang der Pottergläser benutzt, welche anschließend noch zwei Mal mit jeweils 25 ml Diäthyläther nachgespült wurden.

Jede Probe bestand nun aus Gewebebrei in einer Mischung von 10 ml wässriger- und 60 ml Ätherlösung. Entsprechend wurden die Mediumproben auf insgesamt 70 ml Kochsalz-Äther-Lösung aufgefüllt.

7. Extraktion

Um den Steroiden eine Diffusion aus der wässrigen Phase in die Ätherphase durch Vergrößern der gemeinsamen Oberflächen zu ermöglichen, wurden die Proben ausreichend lange (10 Minuten) geschüttelt.

Zur Trennung der beiden Phasen wurden die Proben dann fünf Minuten lang mit 2.000 UDM zentrifugiert und die Ätherphase mit den extrahierten Steroiden in neue Schüttelbirnen abfiltriert.

Die restliche wässrige Phase wurde noch einmal mit 30 ml Diäthyläther versetzt, erneut geschüttelt und zentrifugiert. Damit wurden die noch in der wässrigen Phase zurückgebliebenen Steroide extrahiert. Die Ätherphase

wurde anschließend von der wässrigen Phase getrennt und nach Filtration den entsprechenden Schüttelbirnen zugegeben.

Die Ätherphase wurde nun eingedampft.

8. Dünnschicht-Chromatographie

Die Auftrennung der Metaboliten erfolgte mittels Dünnschicht-Chromatographie.

Die Steroide wurden in zwei Millilitern Methanol aufgelöst erneut geschüttelt, um die an den Wänden der Schüttelbirnen verteilte Radioaktivität zu sammeln, und eingedampft.

Durch Zugabe von 0,2 ml Methanol wurde dann eine konzentrierte Lösung hergestellt, die mit Mikrospritzen unter dauernder Lufttrocknung auf Silica-Gel-Platten aufgetragen wurden. Diese Platten waren eine Stunde lang bei 100°C aktiviert und in einem Exsikkator trockengehalten worden.

Die Proben wurden auf drei und die Referenzsubstanzen auf zwei 4 cm breite Bahnen pro Platte aufgetragen.

Die Chromatogramme wurden in Laufbädern in einem Chloroform-Methanol-Gemisch (99/1 v/v) entwickelt, das sich am besten zur Auftrennung der erwarteten Steroide eignete. Die Lösungsmittel der Laufbäder wurden für jede Platte neu zugegeben.

Um eine Sättigung des Gemisches der Laufbäder und damit ein optimales Laufverhalten der Steroide zu erzielen, wurden die Gefäße mit Papier ausgekleidet, das von Lö-

sungsmittel getränkt war. Ränder und Deckel der Gefäße waren mit Vakuumfett betrichen, um einen dichten Abschluß der Laufbäder zu gewährleisten.

Diese Prozedur wurde nach Lufttrocknen einmal wiederholt, um eine gute Trennung zu erzielen.

9. Radiochromatographie

Die nun qualitativ voneinander getrennten radioaktiven Testosteron-Metaboliten wurden danach der semi-quantitativen graphischen Darstellung mittels eines Dünnschicht-Scanners (Typ II, Fa. Berthold, Karlsruhe) unterworfen. Abbildung 2 zeigt das Beispiel eines typischen Radiochromatogramms.



Abb.2: Beispiel eines typischen Radiochromatogramms

C ₁₉ -unpolar	= Restliche Steroide
5α-Adion	= 5α-Androstandion
Δ	= Androstendion
DHT	= 5α-Dihydrotestosteron
T	= Testosteron
5α-Adiol	= 5α-Androstandiol
C ₁₉ -polar	= Conjugate

10. Elution

Die einzelnen Abschnitte der DC-Bahnen, in denen Steroide festgehalten waren, wurden gemäß der in Radiochromatogrammen angezeigten Bereiche unter Kontrolle der durch UV-Licht und auf den Kontrollbahnen sichtbar gemachten Steroidbezirke ausgekratzt. Jede Fraktion wurde in getrennten Gläschen gesammelt.

Die Steroide wurden durch eine Kolonne aus Trichter, Fritte, Vakuum-Vorstoß und Schüttelbirne mit jeweils 80 ml Dichlormethan:Methanol (9:1 v/v) eluiert.

Nach dem Eindampfen der Lösung wurde mit 2 ml Methanol je Probe eine neue konzentrierte Lösung von jeder Fraktion gewonnen.

Quantitative Bestimmung der Radioaktivität

Von jeder einzelnen Metabolitlösung wurden 0,2 ml zusammen mit 20 ml Scintillationsflüssigkeit in einem Zählröhrchen durch einen Tri-Carb-Liquid-Scintillations-Spektrometer (Typ 3310, Fa. Packard, Frankfurt/Main) gemessen.

Die Scintillations-Flüssigkeit bestand dabei aus einer Lösung von 4 g Omni-fluor⁰ in einem Liter Toluol. Als interner Standard diente ²²⁶Ra.

Der Rest der gelösten Fraktion wurde für die Identifizierung der Steroide herangezogen.

11. Identifizierung

1. Vergleichende Darstellung der Fraktionen unter UV-Licht. Sie erfolgte nach der Dünnschicht-Chromatographie und konnte Testosteron und Androstendion (Doppelbindung) sichtbar machen.
2. Vergleichende Chromatographie der einzelnen Fraktionen. Dabei wurden die Kontrollbahnen der Chromatogramme abgetrennt und die gefundenen Referenz-Substanzen durch Besprühen mit 3,5 %-igem Molybdophosphorsäure-Sprühreagenz dargestellt. Bei diesem Verfahren werden alle Steroide mit OH-Gruppen angefärbt.
3. Vergleichende Chromatographie nach Acetylierung der Steroide, bei der auch die Steroide mit OH-Gruppen erfaßt werden. Die Acetylierung erfolgte mit Pyridin und Essigsäure. Nach Lagerung der Proben für 18 Stunden bei Zimmertemperatur folgte die Dünnschicht-Chromatographie in einem System von Benzol: Essigsäureäthylester (2:1 v/v), ebenfalls auf Silica-Gel-Platten.
4. Rekristallisation zu konstanter spezifischer Aktivität (Axelrod et al 1965).

12. Statistisches Verfahren

Zur allgemeinen Prüfung, ob die aufgeführten Konzentrationen von Gestonoron Capronat unterschiedliche Hemmwirkungen hervorrufen, wird der Friedman -Test angewendet, da es sich um verbundene Stichproben handelt. Den Meßwerten innerhalb eines Blockes (Patienten) werden dabei in aufsteigender Folge Rangzahlen zugeordnet. Dann wird entsprechend jeder Konzentration die Rang-

summe der Rangzahlen gebildet. Die Prüfgröße V errechnet sich nach folgender Formel:

$$V = \frac{12}{m h (h+1)} \sum_{j=1}^h R_{\cdot j}^2 - 3m (h+1)$$

Dabei entspricht

- V = Prüfgröße
m = Anzahl der Blöcke (Patienten) (= 5)
h = Anzahl der Behandlungen pro Block (= 4)
 $\sum R_{\cdot j}$ = Summe der Rangzahlen innerhalb der .j-ten Behandlung

Ist nun $V \approx 9,9$, so besteht ein signifikanter Unterschied, ist $V \approx 7,8$, so besteht ein auffälliger Unterschied zwischen den Hemmwirkungen der Konzentrationen von Gestonoron Capronat.

Der Test nach Wallace und Link erlaubt die Beantwortung der Frage, zwischen welchen Konzentrationen des Hemmstoffes mehr als rein zufällige Unterschiede in der hemmenden Wirkung bestehen. Die Berechnung erfolgt nach folgender Formel:

$$K = \frac{D n}{\sum S_i}$$

Dabei entspricht

- K = Prüfgröße
D = Differenz zweier Behandlungsmittelwerte $\bar{x}$
 S_i = Spannweite innerhalb der i-ten Behandlung (größter minus kleinster Wert)
n = Anzahl der Meßwerte innerhalb einer Behandlung (Anzahl der Patienten)

Ist dabei $K \geq 1,24$, so besteht eine Signifikanz, ist $K \geq 0,96$, so besteht eine Auffälligkeit der Änderung der Hemmwirkung. Bei $K < 0,96$ läßt sich anhand des Beobachtungsumfangs statistisch kein Unterschied nachweisen, der beobachtete Unterschied ist dann mutmaßlich zufallsbedingt.

IV. Ergebnisse

1. Ergebnisse

Nach Inkubation von Prostataadenom-Gewebsstücken von 300 mg mit einem μ Ci Testosteron und jeweils steigenden Konzentrationen Gestonoron Capronat in 2 ml Medium wurden 5α -Dihydrotestosteron, 3α -Androstandiol und Androstendion als Hauptmetaboliten von Testosteron, sowie unmetabolisiertes Testosteron gefunden. Diese Androgene machten ca. 90 % der wiedergefundenen Radioaktivität aus. Polare, konjugierte Stoffwechselprodukte erreichten Werte bis zu 10 % und wurden nicht näher untersucht. In Konzentrationen unter 2 % kamen 5α - und 5β -Androstendion, Androsteron, 5β -Dihydrotestosteron und 3β -Androstandiol vor.

Die Meßwerte der einzelnen Behandlungen sind aus den Tabellen 1 bis 5 zu entnehmen.

Die in Bezug auf ihre besondere androgene Wirkung interessierende Fraktion 5α -Dihydrotestosteron sinkt im Mittel innerhalb des Beobachtungsbereiches von 30 % auf 6,3 % der wiedergefundenen Radioaktivität, während der Anteil des nicht metabolisierten Testosterons im Mittel von 49 % auf 75 % ansteigt.

Die Werte der Fraktionen 3α -Androstandiol und Androstendion ändern sich im Laufe der Behandlung nur wenig und werden im folgenden mit denen von Testosteron und 5α -Dihydrotestosteron, entsprechend den Gleichgewichtsreaktionen, zusammengefaßt. Dihydrotestosteron und Androstandiol werden dabei als 5α -Reduktionsprodukte von Testosteron betrachtet und den Steroiden Testosteron

und Androstendion gegenübergestellt, um die Wirkung von Gestonoron Capronat auf die 5α -Reduktase zu verdeutlichen.

Diese Werte sind aus den Tabellen 6 und 7 zu entnehmen. Die 5α -Reduktationsprodukte fallen dabei innerhalb des Beobachtungsfeldes im Mittel von 38 % auf 9,7 % bei steigenden Konzentrationen von Gestonoron Capronat ab, während gleichzeitig der Anteil der durch die 5α -Reduktase nicht umgewandelten Steroide Testosteron und Androstendion im Mittel von 50 % auf 83 % ansteigt.

In den Abbildungen 3 und 4 sind diese Ergebnisse graphisch veranschaulicht. Diese Graphiken enthalten die Werte der fünf Patienten sowie den daraus gebildeten Mittelwert. Man erkennt die fallende Tendenz der Reduktionsprodukte und die steigende Tendenz der anderen Gruppe, wobei jedoch zwei verschiedene Reaktionstypen unterschieden werden können: Bei drei Patienten ist eine stärkere Abnahme der Reduktionsprodukte von größeren Ausgangswerten festzustellen, bei zwei Patienten ein nur leichtes Abfallen von niedrigeren Ausgangswerten. Die Gruppe der Steroide Testosteron und Androstendion verhält sich entsprechend umgekehrt.

2. Statistische Auswertung

Der Friedman-Test zeigt die Signifikanz des Absinkens der 5α -Reduktationsprodukte bei steigenden Hemmstoffkonzentrationen ($V = 12,6$). Durch den Test nach Wallace und Link wird der Unterschied der Neubildung von 5α -Reduktationsprodukten zwischen den Konzentrationen von $1,2 \cdot 10^{-7}$ mol/l und $1,2 \cdot 10^{-6}$ mol/l ($K = 0,98$) sowie $1,2 \cdot 10^{-6}$ mol/l und $1,2 \cdot 10^{-5}$ mol/l ($K = 0,99$) als statistisch auffällig ermittelt. Keine statistische Auffälligkeit findet sich zwischen den Testosteron-Metaboliten bei Konzentrationen von $1,2 \cdot 10^{-5}$ und $1,2 \cdot 10^{-4}$ mol/l Gestonoron Capronat.

3. Tabellen und Graphiken

Die Tabellen 1 - 5 geben den prozentualen Anteil der einzelnen Steroide an der gesamten wiedergefundenen Radioaktivität bei verschiedenen Konzentrationen von Gestonoron Capronat an. Jede Tabelle gibt die Werte eines Patienten wieder.

Tabelle 1

Richter, Franz 71 Jahre

Konzentration Gest.C. in mol/ l	Polare Steroide %	Andro- stan- diol %	Testo- steron %	Dihydro- testo- steron %	Andro- sten- dion %	Rest %
$1,2 \cdot 10^{-7}$	6,3	11,5	19,9	36,7	3,3	22,3
$1,2 \cdot 10^{-6}$	6,4	10,5	51,8	5,5	3,6	22,1
$1,2 \cdot 10^{-5}$	2,8	4,9	81,7	3,6	3,0	4,0
$1,2 \cdot 10^{-4}$	4,3	8,3	72,4	7,6	3,3	4,1

Tabelle 2

Brand, Ernst 73 Jahre

Konzentration Gest.C. in mol/ l	Polare Steroide %	Andro- stan- diol %	Testo- steron %	Dihydro- testo- steron %	Andro- sten- dion %	Rest %
$1,2 \cdot 10^{-7}$	5,3	18,9	21,5	50,2	1,9	2,2
$1,2 \cdot 10^{-6}$	9,3	10,3	49,7	26,0	2,4	2,4
$1,2 \cdot 10^{-5}$	9,6	3,9	75,4	7,1	3,3	0,7
$1,2 \cdot 10^{-4}$	6,4	11,5	72,8	5,7	2,7	0,8

Tabelle 3

Dr. Wirrmann 55 Jahre

Konzentration Gest.C.	Polare Stero- ide	Andro- stan- diol	Testo- steron	Dihydro- testo- steron	Andro- sten- dion	Rest
in mol/ l	%	%	%	%	%	%
$1,2 \cdot 10^{-7}$	6,8	4,9	69,1	9,2	8,5	1,4
$1,2 \cdot 10^{-6}$	9,7	7,6	59,5	8,7	14,3	0,26
$1,2 \cdot 10^{-5}$	7,5	-	79,7	2,0	10,8	-
$1,2 \cdot 10^{-4}$	6,9	3,0	71,7	1,4	16,9	-

Tabelle 4

Götz, Alfons 71 Jahre

Konzentration Gest.C.	Polare Stero- ide	Andro- stan- diol	Testo- steron	Dihydro- testo- steron	Andro- sten- dion	Rest
in mol/ l	%	%	%	%	%	%
$1,2 \cdot 10^{-7}$	0,2	3,8	36,9	46,5	8,2	4,3
$1,2 \cdot 10^{-6}$	0,5	3,5	48,0	27,4	9,9	9,6
$1,2 \cdot 10^{-5}$	0,4	2,9	69,4	18,1	3,6	5,8
$1,2 \cdot 10^{-4}$	0,7	2,6	68,8	15,0	6,1	7,4

Tabelle 5

Klausfelder, Burghart 68 Jahre

Konzentration Gest.C. in mol/l	Polare Steroide %	Andro- stan- diol %	Testo- steron %	Dihydro- testo- steron %	Andro- sten- dion %	Rest %
$1,2 \cdot 10^{-7}$	7,7	1,8	78,7	5,7	4,0	2,0
$1,2 \cdot 10^{-6}$	6,3	1,6	73,5	5,9	9,3	3,4
$1,2 \cdot 10^{-5}$	4,9	1,7	83,3	3,7	4,6	1,7
$1,2 \cdot 10^{-4}$	4,9	1,2	88,7	1,8	2,7	0,6

Tabelle 6

5α -Dihydrotestosteron und 3α -Androstadiol

Konzentration Gest.Capr. in mol/l	P a t i e n t					R. ² _j
	1 %	2 %	3 %	4 %	5 %	
$1,2 \cdot 10^{-7}$	48,2 (4)	69,1 (4)	14,1 (3)	50,3 (4)	7,5 (4)	19 ²
$1,2 \cdot 10^{-6}$	16,0 (3)	36,3 (3)	16,3 (4)	30,9 (3)	7,5 (3)	16 ²
$1,2 \cdot 10^{-5}$	8,5 (1)	11,0 (1)	2,0 (1)	21,0 (2)	5,4 (2)	7 ²
$1,2 \cdot 10^{-4}$	15,9 (2)	17,2 (2)	4,4 (2)	17,6 (1)	3,0 (1)	8 ²

$$V = 12,6$$

Tabelle 6: Zusammengefaßte prozentuale Anteile der Steroide 5α -Dihydrotestosteron und 3α -Androstadiol an der gesamten wiedergefundenen Radioaktivität bei den einzelnen Patienten und bei verschiedenen Konzentrationen von Gestonoron Capronat. Die Zahlen in Klammern sind die Rangzahlen der darüberstehenden Prozentangaben. V = berechnete Prüfgröße des Friedman-Test.

Tabelle 7

Testosteron und Androstendion

Konzentration Gest. Capr. in mol/l	P a t i e n t					R. ² _j
	1 %	2 %	3 %	4 %	5 %	
1,2 · 10 ⁻⁷	23,2 (1)	23,4 (1)	77,6 (2)	45,1 (1)	82,7 (1)	6 ²
1,2 · 10 ⁻⁶	55,4 (2)	52,3 (2)	73,8 (1)	57,3 (2)	82,8 (2)	9 ²
1,2 · 10 ⁻⁵	84,7 (4)	78,7 (4)	90,3 (4)	73,0 (3)	87,9 (3)	18 ²
1,2 · 10 ⁻⁴	75,7 (3)	75,5 (3)	88,6 (3)	74,9 (4)	91,4 (4)	17 ²

$$V = 12,6$$

Tabelle 7: Zusammengefaßte Anteile der Steroide Testosteron und Androstendion an der gesamten wiedergefundenen Radioaktivität bei den einzelnen Patienten und bei verschiedenen Konzentrationen von Gestonoron Capronat. Die Zahlen in Klammern sind die Rangzahlen der daüberstehenden Prozentangaben. V = berechnete Prüfgröße des Friedman-Test.

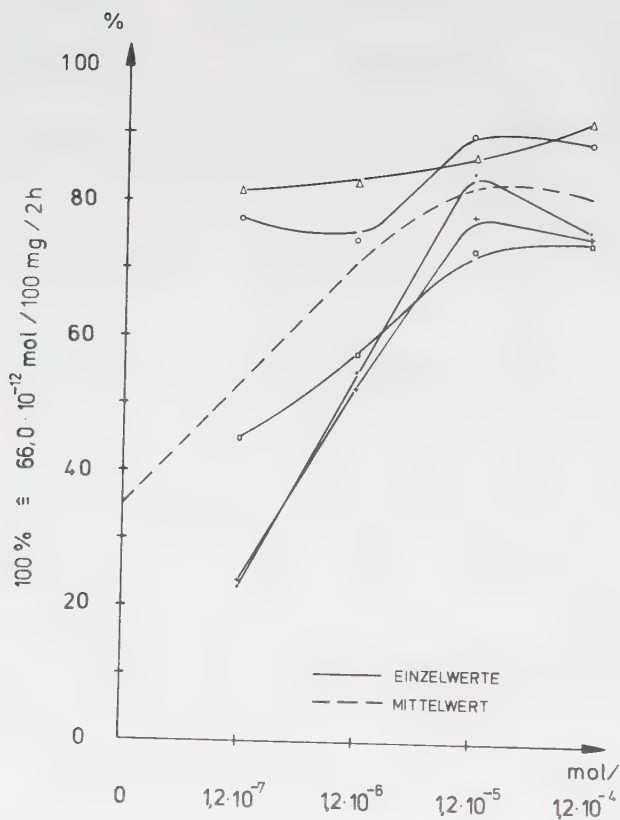


Abb. 3: Darstellung der zusammengefaßten Meßwerte von Testosteron und Androstendion bei steigenden Konzentrationen von Gestonoron Capronat: Abzisse: Gest.Capr. in mol/l Ordinate: Prozente wiedergefundener Radioaktivität. Durchgezogene Kurven: Einzelwerte der verarbeiteten Adenome, ($n = 5$), gestrichelte Kurve: Mittelwert der Einzelergebnisse. Standardwert bei 0 wurde an anderen Adenomen getrennt ermittelt und hier übernommen.

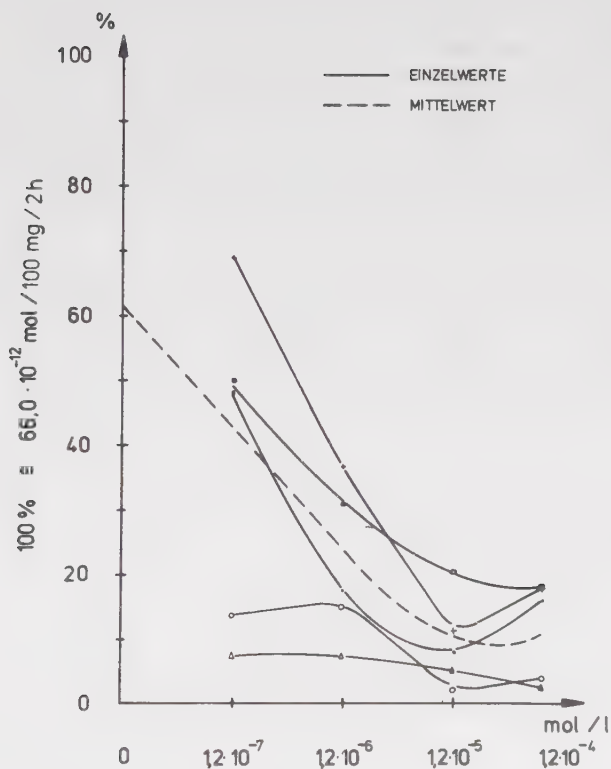


Abb. 4: Darstellung der zusammengefaßten Meßwerte von 5α -Dihydrotestosteron und 3α -Androstadiol bei steigenden Konzentrationen von Gestonoron Capr. Abzisse: Gest.Capr. in mol/l, Ordinate: Prozente wiedergefundener Radioaktivität, Durchgezogene Kurven: Einzelwerte der verarbeiteten Adenome, (n = 5), Gestrichelte Kurve: Mittelwert der Einzelergebnisse. Standardwert bei 0 wurde an anderen Adenomen getrennt ermittelt und hier übernommen.

V. Diskussion

1. Deutung der eigenen Ergebnisse

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen Befunde, daß in der menschlichen Prostata der 17-Hydroxy-Weg des Testosterons beschritten wird, während dem 17-Keto-Weg nur eine untergeordnete Bedeutung zukommt.

Die Meßwerte zeigen eine signifikante Unterdrückung der Reduktion von Testosteron zu 5 α -Dihydrotestosteron sowie dessen Umwandlungsprodukt Androstandiol in vitro durch den Zusatz von Gestonoron Capronat in steigenden Konzentrationen.

Gleichzeitig steigt der Anteil des durch die 5 α -Reduktase nicht metabolisierten Testosterons an. Schon bei der niedrigsten Konzentration von Gestonoron Capronat sinkt der Anteil des 5 α -Dihydrotestosterons auf 30 %, während der Testosteronanteil auf 49 % steigt. Da der Anteil von 5 α -Dihydrotestosteron und Testosteron ohne Zusatz von Gestonoron Capronat 43 % bzw. 30 % beträgt, liegt hier bereits eine deutliche Hemmung der Reduktion vor, die sich in einer Anhäufung des normalerweise schnell umgewandelten Testosterons sowie dem Sinken des im Zusammenhang mit der Ätiologie des Prostataadenoms bedeutungsvollen 5 α -Dihydrotestosterons bemerkbar macht.

Die nächst höhere Konzentration von Gestonoron Capronat bewirkt bereits eine stärkere Hemmung der Reduktion. Während nämlich der Mittelwert von 5 α -Dihydrotestosteron auf 15 % fällt, steigt der Mittelwert des sich anstauenden Testosterons auf 57 % an. Bei den höchsten Konzentrationen von Gestonoron Capronat erreicht die Hemmung der Reduktion eine maximale Stärke. Dies wird an den

sehr hohen Werten des unmetabolischen Testosterons deutlich, die hier 75 % bzw. 78 % erreichen. Die Mittelwerte von 5α -Dihydrotestosteron sinken gleichzeitig auf 6,3 bzw. 6,9 % und zeigen damit innerhalb des Beobachtungsfeldes die größte Unterdrückung der Reduktion. Da die Werte von 5α -Dihydrotestosteron nach Inkubation mit $1,2 \cdot 10^{-5}$ und $1,2 \cdot 10^{-4}$ mol/l Gestonoron Capronat sich nicht unterscheiden, ist offensichtlich schon bei Konzentrationen von $1,2 \cdot 10^{-5}$ mol/l eine maximale Suppression des 5α -Dihydrotestosterons erreicht worden. Es scheint sich ein Gleichgewicht von Gestonoron Capronat und Testosteron in der Zelle eingestellt zu haben, wobei an die Konkurrenz der beiden Stoffe an der Zellmembran, an Rezeptoren oder an einem Enzymlocus gedacht werden muß. Die größte Konzentration von Gestonoron Capronat kann offenbar Testosteron nicht völlig verdrängen, da eine geringe Neubildung von 5α -Dihydrotestosteron und Androstandiol nachweisbar ist.

Die zwei verschiedenen Reaktionstypen, also das steile Abfallen der Reduktionsprodukte in drei Fällen einerseits und das leichte Absinken in zwei Fällen andererseits, kann so erklärt werden, daß die Suppression einmal bei der kleinsten Hemmstoffkonzentration schon fast maximal ist und nur leicht gesteigert werden kann, während die maximale Suppression im anderen Fall erst im Laufe der Behandlung mit steigenden Konzentrationen von Gestonoron Capronat erreicht wird.

Man kann also an Hand dieser steigenden Konzentrationsreihe eine erst zunehmende und dann maximale Unterdrückung der Testosteron-Reduktion erzielen, wobei allerdings das Maximum wegen der in Zehnerpotenzen steigenden Konzentrationen des Hemmstoffes nicht genau

festgelegt werden kann.

Die im Zusammenhang mit der Entstehung des menschlichen Prostataadenoms wünschenswerte Verhinderung der 5α -Dihydrotestosteron-Neubildung in vitro durch einen synthetisierten Abkömmling des 17-Hydroxy-Progesterons, das 17α -OH-19-Nor-Progesteron-Capronat, erfolgt möglicherweise durch eine kompetitive Hemmung der 5α -Reduktase.

Diese Interpretation der Untersuchungsergebnisse wird gestützt durch den Vergleich der Substrateigenschaften verschiedener Δ^4 -Ketosteroide für die 5α -Reduktase der Rattenprostata. Dieser ergibt, daß mehrere Stoffe bessere Substrate für die 5α -Reduktase sind als Testosteron selbst (Frederikson und Wilson, 1970).

Nach dieser Studie haben die Steroide Progesteron und 17α -OH-Progesteron eine kleinere Michaelis-Konstante (K_m) als Testosteron selbst, d. h. sie werden schon in geringeren Konzentrationen als Testosteron an das Enzym gebunden und verdrängen dadurch Testosteron vom Enzymlocus. Diesen Stoffen ist außer der Δ^4 -Keto-Gruppe die C_{19} -Methyl-Gruppe gemeinsam.

Ähnliche K_m -Werte wie Testosteron besitzen Cortexolon, Cortexon und Androstendion. Sie weisen die selbe Konfiguration am A-Ring des Steran-Gerüsts auf, unterscheiden sich jedoch von Testosteron und den oben genannten durch andere Seitenketten an C_{17} .

Die Wirkung von Gestonoron Capronat in der menschlichen Prostata muß nach diesen Beobachtungen durch die Konfiguration im A-Ring hervorgerufene Konkurrenz um die 5α -Reduktase zurückzuführen sein, wobei das Fehlen der

C₁₉- Methyl-Gruppe möglicherweise begünstigend auf die Bindung wirkt.

Die mit Gestonoron Capronat am nächsten chemisch verwandte Substanz, das 17 α -OH-Progesteron, hat eine halb so große Michaelis-Konstante wie Testosteron. Substituenten an C₁₇ und C₁₉ beeinflussen die Affinität in nicht unerheblichem Maße, so daß sich die K_m-Werte von Gestonoron Capronat und 17 α -Progesteron sicher unterscheiden, ohne jedoch dem des Testosterons nahe zu kommen.

Der Versuch, die Meßergebnisse graphisch so darzustellen, daß damit eine typische kompetitive Hemmung der 5 α -Reduktase bewiesen werden konnte, gelang wegen der Inhomogenität der Gewebe und der dafür zu kleinen Anzahl der verarbeiteten Adenome nicht. Eine Produkthemmung durch Dihydrotestosteron scheidet jedoch aus, da Dihydrotestosteron ein schlechter Konkurrent um die 5 α -Reduktase ist (Frederiksen und Wilson, 1970).

Um eine rein physiko-chemische Zersetzung des inkubierten Testosterons auszuschließen, wurde in unserem Labor (unveröffentlichte Ergebnisse) durch Zugabe verschiedener Substrat-Konzentrationen zum Standard-Gemisch eine hyperbolische Enzymkinetik der 5 α -Reduktase gezeigt. Die Konzentration von Testosteron in der vorliegenden Arbeit lag zwar mit 10⁻⁷ mol/l noch im aufsteigenden Teil der Michaelis-Menten-Kurve, der Parameter Substrat-Konzentration war jedoch während aller Versuche konstant, so daß die Ergebnisse miteinander verglichen werden können.

2. Vergleich Gestonoron Capronat - Anti-Androgene

Eine Hemmung der androgenen Wirkung in der Prostata durch Anti-Androgene wurde von mehreren Autoren beschrieben (Hahn et al, 1968; Hansson und Tveiter, 1971; Neri et al, 1968; Geller et al, 1969; Dorfmann, 1963). Das am häufigsten erwähnte Anti-Androgen Cyproteron unterscheidet sich von den Δ^4 -3-Keto-Steroiden durch eine zusätzliche 1,2-Methyl-Gruppe des A-Rings. Cyproteron ist dadurch in der Lage, die Bildung eines 5α -Dihydrotestosteron-Kernprotein-Komplexes zu hemmen. Anti-Androgene sind definitionsgemäß synthetisierte Stoffe, die die Wirkung natürlicher und synthetischer Androgene an den Erfolgsorganen unterdrücken. Cyproteron und Cyproteron-Acetat sollen nach Fang und Liao (1969) die Aufnahme und Retention von Androgenen in der Prostata senken, wobei die Hemmung der Rezeptor-Steroid-Komplexbildung im Vordergrund steht (Walsh und Korenmann, 1970).

Wenn spezifische Androgen-Rezeptoren in der Prostata angenommen werden, wäre die medikamentöse Behandlung des Prostataadenoms mit Anti-Androgenen spezifischer als die Unterdrückung der Neubildung von 5α -Dihydrotestosteron. Die Anti-Androgene können allerdings zur Behandlung dieser benignen Prostataerkrankung nicht angewendet werden, da sie einen Verlust der Libido hervorrufen (Neumann und Steinbeck, 1971).

Der Nachteil der Wirkungsweise von Gestonoron Capronat gegenüber den Anti-Androgenen könnte sein, daß es lediglich eine kompetitive Hemmung der 5α -Reduktase bedingt. Durch sie wird zwar eine Neubildung von 5α -Dihydrotestosteron aus Testosteron in der Prostata verhindert, eine Bindung von evtl. aus anderen Geweben auf dem Blutweg herangeführten 5α -Dihydrotestosteron an Rezeptoren der Prostata jedoch nicht ausgeschlossen.

3. Ergebnisse anderer Autoren mit Gestonoron Capronat

Es liegen jedoch seit kurzem gute klinische Ergebnisse der Gestonoron Capronat-Wirkung vor. So konnten Planz und Orestano 1969 von einer Besserung der dysurischen Beschwerden in 50 % und von einer Kongestion der Prostata in 30 % der untersuchten mit Gestonoron Capronat behandelten Patienten berichten, sowie von einer durch die Uroflow-Methode objektivierten Kräftigung des Harnstrahls. Nuri und Hochberg, sowie Reichelt bestätigten 1970 eine Kräftigung des Harnstrahls und stellten ein Absinken der Restharmenge fest. Vor allen Dingen konnten alle Autoren keine Nebenwirkungen der Gestonoron Capronat-Behandlung finden.

Geller konnte 1965 durch die Gabe des mit Gestonoron Capronat verwandten 17α -OH-Progesteron-Capronat zwar auch eine vor allem röntgenologisch festgestellte Besserung des Krankheitsbildes erzielen, diese Angaben wurden jedoch von Klosterhalfen (1966) erheblich kritisiert.

Extraprostatistische Effekte von Gestonoron Capronat, etwa im Sinne einer Gonadotropin-Suppression, blieben durch die in vitro Anordnung der Versuche unberücksichtigt. Es scheint jedoch in vivo zu einer Hemmung der LH- und FSH-Ausschüttung zu kommen (Sundsford et al, 1971), die einerseits durch die Drosselung der Testosteron-Produktion nicht wünschenswerte Nebenwirkungen, wie ein Nachlassen der anabolen und psychologischen Funktion von Testosteron zur Folge hätte, andererseits aber auch die Wirkung der Enzymhemmung durch Entzug von Testosteron unterstützen könnte.

Die beschriebenen in vitro Versuche könnten zur Klärung

der klinisch-empirischen Ergebnisse der medikamentösen Behandlung des menschlichen Prostataadenoms insofern dienen, als sie die Hemmung der Dihydrotestosteron-Neubildung aus Testosteron durch Gestonoron Capronat in vitro beweisen.

VI. Zusammenfassung

Untersuchungen des Stoffwechsels von Testosteron in der Prostata führen zu der Vermutung, daß 5α -Dihydrotestosteron, ein Reduktionsprodukt des Testosterons, bei der Entstehung des Prostataadenoms eine große Rolle spielt. Eine Unterbrechung des Testosteron-Stoffwechsels könnte zu einer geringeren Neubildung des wichtigen Androgens 5α -Dihydrotestosteron und damit zu einer Möglichkeit der medikamentösen Beeinflussung des übersteigerten Prostatawachstums führen.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung von Gestonoron Capronat, einem Progesteron-Verwandtem, auf die Reduktion von radioaktiv markiertem Testosteron durch Gewebstückchen von Prostataadenomen in vitro studiert.

Es wurden je vier Proben von fünf Prostataadenomen verarbeitet, wobei die Ansätze aus jeweils 2 ml Pufferlösung, 300 mg Gewebe, $1 \mu\text{Ci } ^3\text{H}$ -Testosteron sowie Gestonoron Capronat in Mengen von 0,1 bis 100 pmol bestanden. Die Proben wurden 2 Stunden lang bei 37°C inkubiert. Dann wurden Steroide extrahiert, mittels Dünnschicht-Chromatographie getrennt und schließlich der semi-quantitativen graphischen Darstellung, der quantitativen Bestimmung sowie der qualitativen Identifikation zugeführt.

Dabei ergab sich bei steigenden Mengen von Gestonoron Capronat eine zunehmende Unterdrückung der 5α -Dihydrotestosteron-Neubildung und eine gleichzeitig zunehmende Anhäufung von nicht metabolisiertem Testosteron.

Dieses Ergebnis wird durch eine Arbeit von Frederiksen

und Wilson erklärt, nach der eine Unterdrückung der Reduktion von Testosteron zu 5α -Dihydrotestosteron durch eine Hemmung der 5α -Reduktase wahrscheinlich ist. Gestonoron Capronat ist offenbar wegen seiner dem Testosteron ähnlichen Molekülstruktur in der Lage, dieses durch eine stärkere Affinität zur 5α -Reduktase von Enzymlocus zu verdrängen.

Ein Vergleich des Gestagens mit Anti-Androgenen und die in-vivo-Erfahrungen anderer Autoren mit Gestonoron Capronat lassen es zur medikamentösen Therapie des Prostataadenoms geeignet erscheinen, denn eine Übertragung des in-vitro-Modells auf physiologische Verhältnisse bei Patienten ist durch übereinstimmende Ergebnisse von in-vivo- und in-vitro-Untersuchungen gerechtfertigt.

VII. Quellennachweis

- Anderson, K. M.
Liao, S. Selective retention of Dihydro-
 testosterone by prostatic
 nuclei, *Nature*, 219, 277 -
 279, 1968.
- Andrews, G. S. The histologie of the human
 foetal and prepubertal
 prostates, *J Anat* 85, 44 - 54,
 1951.
- Axelrod, L. R.
et al Definitive identification of
 microquantities of radioactive
 steroids by recrystallisation
 to constant specific activity,
 Acta Endocrinologica Suppl,
 29, 7 - 77, 1965.
- Baulieu, E. E.
Mauvais-Jarvis, P. Studies on testosterone meta-
 bolism I. Conversion of Testo-
 sterone $17\alpha\text{-}^3\text{H}$ to $5\alpha\text{-}$ and
 $5\beta\text{-}$ Androstan- $3\alpha\text{-}17\beta\text{-}$ diol-
 $17\alpha\text{-}^3\text{H}$: A new " $17\beta\text{-}$ Hydroxyl-
 Pathway", *J Biol Chem*, 239,
 1569 - 1577, 1964.
- Baulieu, E. E.
Lasnitzki, I.
Robel, P Metabolism of Testosterone
 and action of metabolites on
 prostate gland grown in organ
 culture, *Nature* 219, 1155 -
 1156, 1968.

Becker, H.
et al

In vivo uptake and metabolism of ^3H -Testosterone and ^3H - 5α -Dihydrotestosterone by human benign prostatic hypertrophy, Acta Endocrinologica 71, 589 - 599, 1972.

Bruchowsky, N.
Wilson, J. D.

The conversion of Testosterone to 5α -Dihydrotestosterone (5α -Androstan-17- α -3-on) by rat prostate in vivo and in vitro, J Biol Chem 243, 2012 - 2021, 1968.

Chamberlain, J.
Jagarinec, N.
Ofner, P.

Catabolism of ($4\text{-}^{14}\text{C}$) Testosterone by subcellular fractions of human prostate, Biochem J 99, 610 - 616, 1966.

Dorfmann, R. I.

Antiandrogens, Nat Cancer Inst Monogr 12, 161 - 179, 1963.

Fang, S.
Liao, S.

Antagonistic action of Antiandrogens on the formation of a specific Dihydrotestosterone-receptor-protein-complex in rat ventral prostate, Mol Pharmacol 5, 420 - 431, 1969.

Farnsworth, W. E.
Brown, I.R.

Testosterone metabolism in the prostate, Nat Cancer Inst Monogr 12, 323 - 329, 1963.

Frederiksen, D. W.
Wilson, J. D.

Partial Charakterization of the nuclear reduced Nicotina-mide Adenine Dinucleotid Phosphate: Δ^4 -3-Ketosteroid-5 α -Oxidoreductase of rat prostate, J Biol Chem 8, 2584 - 2593, 1971.

Geller, J.
et al

Treatment of benign prostatic hypertrophy with Hydroxyprogesteron Capronat: Effect on clinical symptoms, morphologie and endocrine function, JAMA 193, 121 - 128, 1965.

Geller, J.

Effect of Cyproterone Acetat on ^3H -Testosterone uptake and enzyme synthesis by the ventral prostate of the rat, Endocrinology 84, 1330 - 1335, 1969.

Giorgi, E. P.
et al

Androgen dynamics in vitro in the normal and hyperplastic human prostate gland, Biochem J 123, 41 - 55, 1971.

Gloyna, R. E.
Siiteri, P. K.
Wilson, J. D.

Dihydrotestosterone in prostatic hypertrophy II. The formation and content of Dihydrotestosterone in the hypertrophic canine prostate and the effect of Dihydrotestosterone on the prostate growth in the dog, J Clin Invest 49, 1746 - 1753, 1970.

Gloyna, R. E.
Wilson, J. D.

Comparative study of the conversion of Testosterone to 17β -Hydroxy- 5α -androstan-3-one (Dihydrotestosterone) by prostate and epididymis, J Clin Endocr, 29, 970 - 977, 1969.

Hahn, J. D.
Neumann, F.
Bernsworth-Wollrabe, R.v.

Tierexperimentelle Untersuchungen mit 19-Nor-17-Hydroxy-Progesteron-Capronat im Hinblick auf eine mögliche therapeutische Anwendung bei der Prostatahypertrophie, Urologe 7, 208 - 214, 1968.

Halban, J.

Schwangerschaftsreaktionen der foetalen Organe und ihre puerperale Involution, Z Geburtsh Gynäk 53, 191 - 231, 1904.

Hansson, V.

Uptake and retention of Testosterone and 5α -Dihydrotestosterone by rat ventral prostate in vitro, Acta Endocrinologica 68, 98 - 97, 1971.

Hansson, V.
et al

Androgenic receptors in human benign nodular prostatic hyperplasia, Acta Endocrinologica 68, 79 - 88, 1971.

Hansson, V.
Tveter, K. J.

Androgenic receptors in human benign nodular prostatic hyperplasia, Acta Endocrinologica Suppl 155, 148, 1971.

Hansson, V.
Tveter, K. J.

Effect of Anti-Androgens on the uptake and binding of Androgens by human nodular hyperplasia in vitro, *Acta Endocrinologica* 68, 69 - 78, 1971.

Hansson, V.
et al

Studies on the interaction between androgen and macro-molecules in male Sex organs of rat and man, *J Steroid Biochem* 3/3, 427 - 439 (1972).

Jakob, F.
Monod, J.

Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins, *J mol biol* 3, 318 - 356, 1961.

Klosterhalfen, H.

Behandlung der Prostatahyper-trophie mit Hydroxy-Progesteron-Capronat, *DMW* 21, 2138, 1966.

Liao, S.
et al

Rapid effect of Testosterone on ribonucleic Acid Polymerase activity of rat ventral prostate, *Endocrinology* 77, 763 - 765, 1965.

Mangan, F. R.
Mainwaring, W. P.

The possible influence of steroid receptor complexes on the interaction of DNA - and RNA-polimerases, *Acta Endocrinologica Suppl* 155, 151, 1971.

Moore, R. J.
Wilson, J. D.

Localisation of the reduced
Nicotinamide Adenin
Dinucleotid Phosphat: Δ^4 -
3 Ketosteroid-5 α -Oxidoreduc-
tase in the nuclear membrane
of the rat ventral prostate,
J Biol Chem 247, 958 - 967,
1972.

Neumann, F.
Steinbeck, H.

Anti-Androgene, Der Internist
12, 198 - 205, 1971.

Neri, R. O.
et al

Effects of an Anti-Androgen,
SH 714, Cyproterone Acetat,
on canine prostatic hyper-
plasia, Endocrinologie 82,
311, 1968.

Nuri, M.
Hochberg, K.

Behandlung der Prostatahyper-
trophie mit Depostat, Münch-
ner Medizinische Wochenzeit-
schrift 22, 1057 - 1060,
1970.

Planz, C.
Orestano, F.

Klinik und Therapie der Pro-
statahypertrophie, Wien Med
Wschr 119, 668 - 671, 1969.

Price, D.

Comparative aspects of develop-
ment and structure in the
Prostate, Nat Cancer Inst
Monogr 12, 1 - 17, 1962.

Reichelt, H.

Gestagene - eine wirksame kon-
servative Behandlung der soge-
nannten Prostatahypertrophie?,
Wien Med Wsch 120, 792 - 795,
1970.

Shimazaki, J.
et al

Metabolism of Testosterone in
muscular tissue, Gunma J
Med Sci 14, 100 - 106, 1965.

Siiteri, P. K.
Wilson, J. D.

Dihydrotestosterone in
prostatic hypertrophy I. The
formation and content of Di-
hydrotestosterone in the
hypertrophic prostate of man,
J Clin Invest 49, 1737 - 1745,
1970.

Sundsfjord, J. A.
Aakvaag, A.
Norman, N.

Reduced plasma Testosterone and
LH in young men during pro-
gesterone administration, J
Reprod Fert 26, 263 - 265,
1971.

Staib, W.

Der intracelluläre Testosteron-
stoffwechsel. Quantitative
Bestimmung von Testosteron im
Harn, aus: Das Testosteron.
Die Struma, von E. Klein,
Springer-Verlag, Berlin, 1968.

Walsh, P. C.
Korenmann, S. G.

Mechanisms of androgenic action
Effect of specific intracel-
lular inhibitors, J Urol 105,
850 - 857, 1971.

Wilson, J. D.

Recent studies on the mecha-
nisms of action of Testosterone
New England J Med 287, 1284 -
1291, 1972.

Wilson, J. D.
Bruchowsky, N.
Chatfield, J. N.

Intranuclear localisation of
Testosterone-1,2-³H in rat
prostate, in: "Progress in
Endocrinologie" Proceedings
of the Third International
Congress of Endocrinologie,
Excerpta Medica Foundation,
Amsterdam, 1969.

Wilson, J. D.
Loeb, P. M.

Estrogen and Androgen control
of cell biosynthesis in target
organs, Metab Control Mech
Neoplas 1965, 375 - 381.

Wotiz, H. H.
Lemon, H. M.

Studies in steroid metabolism-
I-Metabolism of Testosterone
by Human prostatic tissue
slices, J Biol Chem 206,
525 - 532, 1954.

Herrn Dr. Altwein, der mich
bei der Ausführung meiner
Arbeit unterstützte, gilt
mein besonderer Dank.

Auch Frl. Kuhlmann und Herrn
Klose, die mich in die Labor-
technik einführten, möchte ich
für ihre freundliche Unter-
stützung danken.

Schließlich danke ich Herrn
Prof. Dr. Berger für die Rat-
schläge zur statistischen Aus-
wertung der Arbeit.

L e b e n s l a u f

Als Sohn des Kaufmanns Hans Joachim Volkmer und seiner Frau Lina, geb. Wieland, wurde ich am 6. Juni 1947 in Frankfurt/Main geboren.

Die Grundschule besuchte ich seit 1954 in Ludwigshafen/Rh. und später in Frankfurt/M., wo ich dann 1958 zum Gymnasium zugelassen wurde. Ich beendete meine Schulausbildung 1966 mit dem Reifezeugnis der Liebigschule, deren mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig ich durchlaufen hatte.

Meiner Wehrpflicht kam ich bei der Bundeswehr von 1967 bis 1969 nach.

Seit dem Sommer-Semester 1969 bin ich als ordentlicher Student an der Johannes Gutenberg-Universität eingeschrieben. Ich studiere Zahnmedizin und Humanmedizin. Die naturwissenschaftlichen Vorprüfungen bestand ich 1970/71, die ärztlichen Vorprüfungen 1972 mit der Note gut.

